

(54) PRODUCTION OF ETHANOL WITH FREE CELL AND IMMOBILIZED CELL USING AGGLUTINATIVE YEAST

(11) 3-164188 (A) (43) 16.7.1991 (19) JP
 (21) Appl. No. 63-248732 (22) 30.9.1988
 (71) SANOU TECHNO INSUTEICHIYUUTO K.K. (72) AKIRA OSATO(2)
 (51) Int. Cl.⁵. C12P7 06, C12N1 16 (C12P7 06, C12R1 865)(C12N1 16, C12R1 865)

PURPOSE: To carry out ethanol fermentation without necessitating centrifugal separation and enabling the repeated use of yeast, at a low cost, by using free cells of a specific yeast belonging to genus *Saccharomyces* and having agglutinative property.

CONSTITUTION: Ethanol fermentation is carried out repeatedly and semicontinuously by using free cells of an agglutinative yeast H.S.D.-1 (FERM 2066) belonging to genus *Saccharomyces*. Repeated and continuous ethanol fermentation can be performed by immobilizing the above yeast or other alcoholic fermentative, agglutinative or non-agglutinative yeast with a carrier such as ceramic carrier, calcium alginate gel, K-carrageenan potassium gel, polyacrylamide gel and photosetting resin.

(54) PRODUCTION OF INULooligosaccharide

(11) 3-164189 (A) (43) 16.7.1991 (19) JP
 (21) Appl. No. 64-303351 (22) 24.11.1989
 (71) MITSUI TOATSU CHEM INC (72) HIROYUKI OKUNO(5)
 (51) Int. Cl.⁵. C12P19/14

PURPOSE: To produce inulooligosaccharide having low water-content in high efficiency at a low cost by adding and reacting an inulin solution having a specific water content to inulin or inulin-containing vegetable.

CONSTITUTION: An inulin-containing filtrate (enzyme liquid) is produced by culturing a microbial strain of genus *Aspergillus*, etc., and filtering the culture liquid. The enzyme liquid is added to warm water of 40-60°C to obtain a solution having a water content of 50-70wt.% and the solution is added to dried fine powder of inulin or inulin-containing vegetable. After enzymatic decomposition of the inulin, etc., at 40-70°C for 12-36hrs, the decomposition product is dried with a drum-type dryer, etc., to a water content of ≤ 5 wt.% to obtain the objective inulooligosaccharide.

(54) PRODUCTION OF INULooligosaccharide

(11) 3-164190 (A) (43) 16.7.1991 (19) JP
 (21) Appl. No. 64-303352 (22) 24.11.1989
 (71) MITSUI TOATSU CHEM INC (72) HIROYUKI OKUNO(5)
 (51) Int. Cl.⁵. C12P19 14

PURPOSE: To obtain the subject sugar in high yield while preventing contamination with sundry germ by carrying out enzymatic decomposition of inulin(-containing vegetable) at a temperature above the stable temperature of the enzyme used in the reaction.

CONSTITUTION: The objective sugar can be produced by the enzymatic decomposition of inulin(-containing vegetable) with an enzyme (preferably inulinase produced by *Penicillium purpurogeum* var. *rubri-sclerotium*) at a temperature (preferably 55-70°C) above the stable temperature of the enzyme.

⑨ 日本国特許庁(JP)

⑩ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A) 平3-164188

⑪ Int. Cl.⁸

C 12 P 7/06
C 12 N 1/16

識別記号

庁内整理番号

G 8114-4B
9050-4B※

⑬ 公開 平成3年(1991)7月16日

審査請求 有 請求項の数 2 (全10頁)

⑭ 発明の名称 凝集性酵母を用い遊離細胞及び固定化細胞によるエタノールの製造法

⑮ 特 願 昭63-248732

⑯ 出 願 昭63(1988)9月30日

⑰ 発 明 者 大 里 章 岐阜県岐阜市梅林南町12番地 三旺テクノインスティテュート株式会社内
⑱ 発 明 者 堀 津 浩 章 岐阜県岐阜市梅林南町12番地 三旺テクノインスティテュート株式会社内
⑲ 発 明 者 リブラド エイ. サ 岐阜県岐阜市梅林南町12番地 三旺テクノインスティテュート株式会社内
⑳ 出 願 人 三旺テクノインスティテュート株式会社 岐阜県岐阜市梅林南町12番地

最終頁に続く

明 細 書

1. 発明の名称

凝集性酵母を用い遊離細胞及び固定化細胞によるエタノールの製造法

2. 特許請求の範囲

- (1) サッカロミセス属で凝集性を有する酵母の遊離細胞によるエタノールの反復及び半連続発酵
- (2) 上記の酵母をセラミックス担体を始めアルギン酸カルシュームゲル、K-カラギーナンカリウムゲル、ポリアクリルアミドゲル、光硬化性樹脂などで固定化した後、エタノールの反復及び連続発酵

3. 発明の詳細な説明

[産業上の利用分野]

本発明は凝集性酵母を遊離又は固定化しエタノールの反復、半連続及び連続発酵に関する

[従来の技術]

従来、工業的なエタノール発酵は主に非凝集性酵母を用いた固分発酵が多い。しかし、最近では凝集性酵母を用いたエタノールの連続生産につ

いても研究がみられてきた(Hiroshi Kuriyama et al., J. Ferment Technol 63, 159 (1985), Savitree Limtong et al., J. Ferment Technol 62, 55 (1984)。しかし、そこで使用されている酵母の凝集性、発酵速度、発酵温度などでは満足できない。

[発明が解決しようとする課題]

一般に酵母によるエタノール発酵工業生産では非凝集性酵母が使用されているため、発酵完了後、発酵液と酵母菌体の分離に遠心分離操作を必要とするため、膨大なエネルギー及び時間を必要とする。また遠心分離により菌体を分離するため酵母の汚染が起こり、酵母の再使用は望ましくない。

本発明は凝集性酵母を使用するため、遠心分離による発酵液の分離を必要とせず、また凝集沈降操作により発酵液の取り除き可能なため酵母は汚染されず反復利用が可能となる。またそ

の発酵法についても反復発酵は勿論のこと、発酵完了後、発酵液の約1/2量を除去、除去分に相当する量の新しく調製された培地を加え発酵を続ける半連続発酵法も可能となる。更に本酵母をセラミックス担体を始めアルギン酸カルシウムゲル、K-カラギーナンカリウムゲル、ポリアクリルアミドゲル、光硬化性樹脂などに固定化したバイオリアクターを用い反復法並びに連続法によるエタノール発酵をも可能とした。

[課題を解決するための手段及び本酵母の特性]
従来のエタノール発酵は非醸造性酵母を使用していること、また最近報告された醸造性酵母の性質が工業化にはマッチしないので、本発明ではまず第一に工業化に適した醸造性酵母のスクリーニングから始めた。その結果蔗糖発酵菌から特に醸造性の高い酵母の分離に成功した。本酵母は醸造性の高いほかに、その特性として発酵温度が40℃と一般酵母より10℃以上高いこと、また12%のエタノール耐性を有すること、初発糖濃度が30%まで高められること、

以下本酵母を用いたエタノール発酵製造法について説明する。

本酵母のエタノール発酵培地としては主に蔗糖(糖濃度5~30%)に0.1%の尿素、KH₂PO₄、MgSO₄・7H₂Oを加えたものを使用した。pHは調整にて4.5に調整する。

なお固定化酵母の培地としても上述と同じ培地を使用した。

次に固定化用担体はシリカ、アルミナ、ジルコニアなどの単独又は混合物をコロイダルシリカ及び硫酸バンド等のバインダーと共に焼成して得られたセラミックスで形状としては円筒状、円板状、板状、ビーズ状等のいずれか一つ又は組み合わせたものを使用した。詳細については昭和62年特許第304426号を参照の事。その他3~5%アルギン酸カルシウムゲル、3~5%K-カラギーナンカリウムゲル、5~7%ポリアクリルアミドゲル、光硬化性樹脂などに包埋されたビーズ状、ブロック状、板状の

発酵率も90%と高いことなど、工業化に必要な諸条件を有している。以上説明したいずれも工業化にすぐれた特性を持ち合わせた本酵母を用い、遊離細胞並びに固定化細胞を使用し反復、半連続及び連続法によってエタノール発酵を行う新しい製造法である。

[以下に本発明を詳述する]

まず本発明の醸造酵母について述べる。

本発明に使用した醸造酵母は各種甘蔗発酵菌から分離された醸造性酵母のうちでもっとも醸造性の高いものである。その大きさは(3~8)X(5~10)μmで多極出芽により増殖する。

本酵母の生理的、生化学的性質を表1に示す。本酵母はKreger-van Rijの分類により、*Saccharomyces cerevisiae*と固定され、*Saccharomyces cerevisiae* H. S. O. -1株と命名する。

本酵母は工業技術院微生物研究所に醸工研発第2066号として寄託されている。

もので良い。

上記操作により得られた固定化酵母を発酵容器に入れ蔗糖培地又はグルコースなどの炭素源に少量の窒素源を加えた培地を発酵原料とし嫌氣的条件下で固定化菌体と接触させつつ発酵させる。なお上記発酵容器としては例えば、フィルム反応槽、円筒槽、セラミック吸着管で仕切られた槽、球状セラミックス、各種ゲルを充填槽で用いたものなど、どんなものであっても良い。セラミックスの形状、反応槽に就いては公開特許公報昭62-151176号を参照のこと。なお上記嫌氣条件とは特に通気を行わない状態、あるいは該発酵容器の空間部を炭酸ガス、窒素ガスなどで置換した状態を意味する。

発酵時間としては5時間以上、好ましくは8~10時間程度接触・発酵させる。上記発酵型式としては反復式、半連続式、連続式など適宜選択して行うことができる。上記操作により得られた発酵液は蒸留してエタノール製品とする。

[以下実施例により本発明を具体的に示す]

実施例 1.

本酵母 H. S. O. - 1 株の前培養は 2% グルコース、1% ペプトン、0.5% 酵母エキスを加え pH 4.5 とした培地を最菌後培養増殖する。

本発酵は主にモラセスを用い糖濃度 10~30% に希釈した後 0.1% の尿素、 KH_2PO_4 、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ を加え pH 4.5 とし殺菌した培地に前培養酵母を加え発酵する。本培養では高濃度発酵の際殺菌しない培地でも良い。

本酵母を用い糖濃度を 16%、20% 及び 25% としたモラセスを用い遊離菌体を用いた発酵結果を表 2 に示す。表 2 より本酵母は糖濃度 25% で 12.4% のエタノールを 8 時間で生成する。

通常酵母の最適温度は 28~30℃ であるが、発酵過程において、発酵熱に振りこられより高い温度になるため冷却を必要とする。本酵母の一つの特徴として、発酵温度が 38~40℃ と云う高い特性がある為、冷却がそれだけ少なくて

図 2 より固定化酵母はアルコール濃度も 1% 以上高く、また発酵時間も 10~20% 以上短縮可能である。

得る大きな利点がある。

他の代表的なアルコール発酵酵母、*Saccharomyces uvarum*、醸造協会 7 号との比較を図 1 に示す。この図からも解るように本酵母は 35℃ では生成エタノールの濃度及び発酵速度の早いことも明らかで約 20% 以上の高効率を有する。

なお凝集効果については一般発酵培地で検討した結果、凝集時間 1 分以内と優れていた。

実施例 2.

固定化酵母によるエタノール発酵。

先に述べた色々の固定化担体で本酵母を固定化しエタノール発酵を行ったが、ここではセラミックス担体に固定化した後、エタノール発酵を行った例について述べる。

あらかじめセラミックス担体に本酵母を吸着固定化した後、反応器に入れ、発酵原液として 22% 糖濃度のモラセス培地を用い 38℃ で反復発酵を行った。なお遊離菌体との比較を図 2 に示す。

表 1. *Saccharomyces cerevisiae* H. S. O. - 1 株の性質

| 発酵 | 試験結果 |
|------------------------------------|-------|
| グルコース | + |
| ガラクトース | + |
| スクロース | + |
| マルトース | + |
| ラフィノース | +(完全) |
| ラクトース | - |
| 炭素源酸化性 | |
| グルコース | + |
| ガラクトース | + |
| スクロース | + |
| マルトース | + |
| ラフィノース | + |
| ラクトース | - |
| KNO_3 の還元 | - |
| 生育 | |
| 50% グルコース-イースト抽出液希釈 | +++ |
| 10% NaCl-5% グルコース-0.5% Bacto yeast | |
| Nitrogen Base Solution | ++ |
| 40°C | ++ |
| ガスと菌生成 | + |
| アミロイド生成 | + |

表2. *S. cerevisiae* H.3.0.-1株を用いての発酵最適温度の影響

| 発酵時間 (hr.) | PH | | | 濃度 (%) | | | エタノール (%) | | |
|------------|------|------|------|--------|------|------|-----------|------|------|
| | 15% | 20% | 25% | 15% | 20% | 25% | 15% | 20% | 25% |
| 1 | 4.35 | 4.47 | 4.46 | 12.2 | 16.9 | 10.0 | 1.0 | 1.0 | 1.5 |
| 2 | 4.34 | 4.51 | 4.53 | 10.0 | 14.1 | 14.6 | 3.2 | 3.2 | 4.5 |
| 3 | 4.48 | 4.51 | 4.57 | 8.5 | 10.4 | 10.7 | 4.0 | 4.5 | 5.9 |
| 4 | 4.51 | 4.55 | 4.63 | 3.7 | 8.8 | 7.0 | 6.3 | 6.8 | 7.4 |
| 5 | 4.66 | 4.58 | 4.68 | 2.4 | 5.7 | 5.2 | 7.9 | 8.0 | 9.4 |
| 6 | 4.62 | 4.61 | 4.73 | 2.4 | 3.9 | 3.8 | 8.1 | 9.2 | 11.1 |
| 7 | 4.68 | 4.64 | 4.77 | 2.4 | 2.9 | 3.2 | 8.2 | 9.9 | 12.1 |
| 8 | 4.67 | 4.66 | 4.70 | 1.8 | 2.8 | 3.2 | 8.3 | 10.3 | 12.2 |
| 9 | 4.67 | 4.66 | 4.70 | 1.8 | 2.8 | 3.2 | 8.3 | 10.4 | 12.3 |
| 10 | 4.67 | 4.66 | 4.81 | 1.8 | 2.8 | 3.2 | 8.3 | 10.4 | 12.4 |

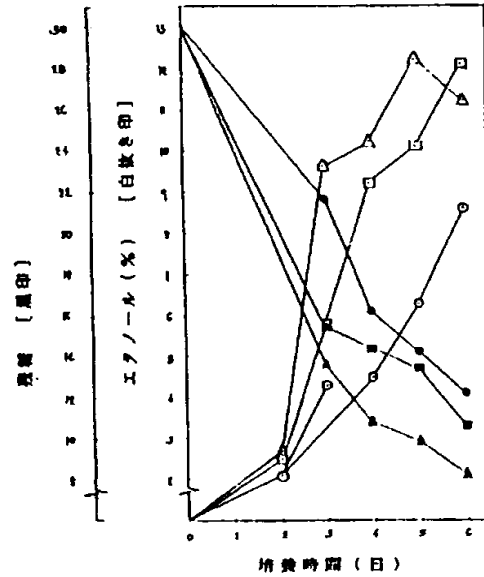


図1. 発酵温度 (35℃) における各種酵母の影響

△: 本酵母 H. S. O. - 1 株
 □: *Saccharomyces Uvarum*
 ○: *S. cerevisiae* 醸造協会 7号

手続補正書 (特開)

昭和64年1月6日

特許庁長官殿

1. 事件の表示
特願昭63-248732
2. 発明の名称
発酵性酵母を用いた発酵過程及び固定化細胞によるエタノールの製造法
3. 補正をする者
事件との関係 特許出願人
岐阜県岐阜市御井町12番地
三社テクノインスティテュート株式会社
代表取締役 大屋 章
4. 補正の対象
 1. 明細書の全文訂正
 2. 表
 3. 図
5. 補正の内容 記載の通り

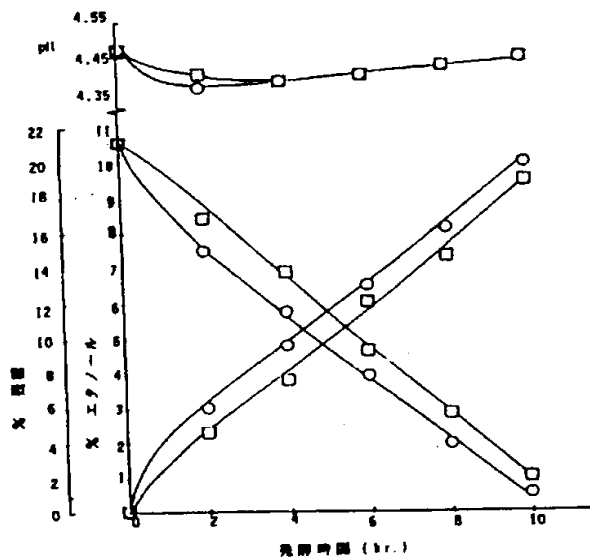


図2. 遊離細胞 (□) と固定細胞 (○) との比較
S. cerevisiae H.3.0.-1株使用、38℃
 固相発酵槽使用。

明 細 書

1. 発明の名称

発酵性並びに非発酵性酵母を用い連続細胞及び固定化細胞によるエタノールの急速製造法

2. 特許請求の範囲

(1) サッカロミセス属で発酵性を有する酵母 H. S. O. -1 の連続細胞によるエタノールの反復及び半連続発酵法

(2) 上記の酵母、並びにアルコール発酵性のその他の発酵性及び非発酵性酵母をセラミックス担体を始めアルギン酸カルシウムゲル、K-カラギーナンカリウムゲル、ポリアクリルアミドゲル、光硬化性樹脂などで固定化した後、エタノールの反復及び連続発酵法

3. 発明の詳細な説明

〔産業上の利用分野〕

本発明は発酵性並びに非発酵性酵母を連続又は固定化しエタノールの固分、反復、半連続及び連続発酵に関する

〔従来の技術〕

従来による発酵液の分離を必要とせず、また発酵沈澱操作により発酵液の取り除き可能なため酵母は汚染されず反復利用が可能となる。またその発酵法についても反復発酵は勿論のこと、発酵完了後、発酵液の大部分を除去、除去分に相当する量の新しく調製された増地を加え発酵を続ける半連続発酵法も可能となる。更に発酵性酵母及び非発酵性酵母をセラミックス担体を始めアルギン酸カルシウムゲル、K-カラギーナンカリウムゲル、ポリアクリルアミドゲル、光硬化性樹脂などに固定化したバイオリクターを用い反復法並びに連続法によるエタノール発酵をも可能にしたことにより、生産量及びエタノール収率の向上、並びに人件費の大幅なる削減が達成できることは明らかである。又、本製造法は発酵が密閉容器内で行われることにより、アルコールの品質向上及び二酸化炭素の再利用が可能である。

〔課題を解決するための手段及び本発明の特性〕

従来のエタノール発酵は非発酵性酵母を使用し

従来、工業的なエタノール発酵は主に非発酵性酵母を用いた固分発酵が多い。しかし、最近では発酵性酵母を用いたエタノールの連続生産についても研究がみられてきた(Hiroshi Kuriyama et al, J. Ferment Technol 63, 159 (1985), Savitree Limtong et al, J. Ferment Technol 62, 55 (1984))。しかし、そこで使用されている酵母の発酵性、発酵速度、発酵温度などでは満足できない。

〔発明が解決しようとする課題〕

一般に酵母によるエタノール発酵工業生産では非発酵性酵母が使用されているため、発酵完了後、発酵液と酵母菌体の分離に遠心分離操作を必要とするため、膨大なエネルギー及び時間を必要とする。また遠心分離により菌体を分離するため酵母の汚染が起こり、酵母の再使用は望ましくない。

本発明は発酵性酵母を使用するため、遠心分

ていること、また最近報告された発酵性酵母の性質が工業化にはマッチしないので、本発明ではまず第一に工業化に適した発酵性酵母のスクリーニングから始めた。その結果選定された酵母から特に発酵性の高い酵母の分離に成功した。本酵母は発酵性の高いほかに、その特性として発酵温度が38℃～40℃と一般酵母より10℃以上高いこと、また15%のエタノール濃縮性を有すること、初発酵濃度が30%まで高めれること、エタノール生産速度が4～8時間と早く、発酵率も90%と高いことなど、工業化に必要な諸条件を有している。以上説明したいずれも工業化にすぐれた特性を持ち合わせた本酵母を用い、連続細胞並びに固定化細胞を使用し反復、半連続及び連続法によってエタノール発酵を行うことにより、蒸留工程時の蒸気効率の向上、反応時間の短縮、希釈液及び冷却水の節約、蒸留原液量の小さ量化など、大きな経済的恩恵が得られる新しい製造法である。

〔以下に本発明を詳述する〕

まず本発明の発酵酵母について述べる。

本発明に使用した発酵酵母は各種甘菜類糖蜜から分離された発酵性酵母のうちでもっとも発酵性の高いものである。その大きさは(3~8)×(5~10)μmで多極出芽により増殖する。

本酵母の生理的、生化学的性質を表1に示す。本酵母はKreger-van Rijの分類により、*Saccharomyces cerevisiae*と同定され、*Saccharomyces cerevisiae* H. S. O. -1株と命名する。

本酵母は工業技術院微生物研究所に微生物株第2066号として寄託されている。

以下本酵母を用いたエタノール発酵製造法について説明する。

発酵に先立ち、本酵母の前培養は2%グルコース、1%ペプトン、0.5%酵母エキスを加えpH4.5とした培地を最微量培養する。

本酵母のエタノール発酵培地としては主に発酵室(糖濃度20~25%)に0.1%の尿素、

KH₂PO₄、MgSO₄・7H₂Oを加えたものを使用した。pHは調整にて4.5に調整する。このほか、糖蜜と皮糖液の混合液いはペプトン添加グルコースと酵母エキスの混合も使用できる。発酵は自由に遊離する細胞又は固定化細胞を使用し、好気的条件下で行われる。

なお固定化酵母の培地としても上述と同じ培地を使用した。

固定化用担体はシリカ、アルミナ、ジルコニアなどの単独又は混合物をコロイダルシリカ及び硫酸バンド等のバインダーと共に焼成して得られたセラミックスで、形状としては円筒状、円板状、板状、ビーズ状等のいずれか一つ又は組み合わせたものを使用した。その他3~5%アルギン酸カルシウムゲル、3~5%K-カラギーナンカリウムゲル、5~7%ポリアクリルアミドゲル、光硬化性樹脂などに包括されたビーズ状、ブロック状、板状のもの等である。

上記操作により得られた固定化酵母を発酵容器に入れ発酵室培地又はグルコースなどの炭素

源に少量の窒素源を加えた培地を発酵原料とし、好気的条件下で固定化菌体と接触させつつ発酵させる。なお上記発酵容器としては例えば、フィルム反応槽、円筒槽、セラミック吸着板で仕切られた槽、球状セラミックス、各種ゲルを充填した発酵槽として使用できるものなどである。なお上記好気条件とは特に通気を行わない状態、あるいは該発酵容器の空間部を炭酸ガス、窒素ガスなどで置換した状態を意味する。

発酵時間としては5時間以上、8~10時間程度である。上記発酵型式としては反復式、半連続式、連続式など適宜選択して行うことができる。上記操作により得られた発酵液は蒸留してエタノール製品とする。

[以下実施例により本発明を具体的に示す]

実施例 1.

表2は高い初発糖濃度がエタノール生成に及ぼす効果を示す。6~7時間の発酵後、エタノール濃度は糖濃度が、8.2、9.9、12.1%(v/v)の時それぞれ、16、20、2

5%(w/v)得られた。30%グルコース、1%ペプトン、0.5%酵母エキスを加えた培地を使用した場合、本酵母は上記と同様の発酵時間で1.5%(v/v)のエタノール濃度が得られた。これは本酵母H. S. O. -1株のエタノール耐性を示す。

実施例 2.

他の代表的なアルコール発酵酵母、*Saccharomyces uvarum*、醸造協会7号との比較を図1に示す。この図で明らかなように、本酵母H. S. O. -1は他の酵母に比べ、例え高い初発糖濃度(32%)のときでも発酵速度は早くエタノール濃度が高い。最終のエタノール濃度は6日後に12%であった。

実施例 3.

本酵母の発酵効果について一般発酵培地で検討した結果、発酵時間1分で発酵物の沈殿の高さが10~15%を示した。

実施例 4.

通常酵母の最適生長温度は30であるが、発酵

過程において、発酵熱によりこれより高い温度になるため冷却を必要とする。本酵母の一つの特徴として、発酵温度が38〜40℃という高い特性があるため、他の酵母の場合と比較して冷却がそれだけ少なくて済む大きな利点がある。特に甘蔗生産地である温暖地域に於いては、特筆すべき効果である。

図2は、本酵母が発酵温度38℃で10回以上の反復発酵でもエタノール濃度9%を維持する事を示す。これに対し、発酵温度40℃の時は、特に初発酵濃度が高い(30%グルコース)場合、初パッチ以外は9%より低下する。

実施例 5.

図3は、本酵母を用いた12〜14日の連続発酵でも流量12ml/hで9.2%濃度のエタノールが安定的に生成されることを示す。

実施例 6.

固定化酵母によるエタノール発酵にて、先に述べた色々の固定化担体で本酵母を固定化しエタノール発酵を行ったが、ここではセラミックス

担体に固定化した後、エタノール発酵を行った例との比較をした。あらかじめセラミックス担体に本酵母を吸着固定化した後、反応器に入れ、発酵原液として22%糖濃度のモラセス培地を用い38℃で反復発酵を行った。遊離菌体、アルギン酸固定酵母との比較を図4に示す。

図4より固定化酵母はアルコール濃度も同一反応時間で30%以上高く、また発酵時間も50%以上短縮可能である。

実施例 7.

図5は、25%の初発酵濃度が高効率の連続エタノール発酵に最適であることを示す。

4. [表、図の簡単な説明]

表1. *Saccharomyces cerevisiae* H. S. O. -1株の性質

表2. *Saccharomyces cerevisiae* H. S. O. -1株を用いてのグルコース濃度、30℃での発酵経過

図1. モラセス培地での各種酵母の発酵経過比較図(初発酵濃度2x10⁸/ml)

図2. 2種の温度差に於ける繰り返し四分発酵法におけるH. S. O. -1の発酵経過(初発酵濃度2.1±1%)

図3. アルギン酸固定化酵母を用い各種流量下での連続発酵経過(培地組成20%グルコース、1%ペプトン、0.5%酵母エキス、pH4.5)

図4. 各種固定化酵母での発酵過程の比較
○/●: 遊離酵母, □/■: アルギン酸固定酵母, △/▲: セラミックス固定酵母

図5. セラミックス固定化酵母を用い各種濃度での比較

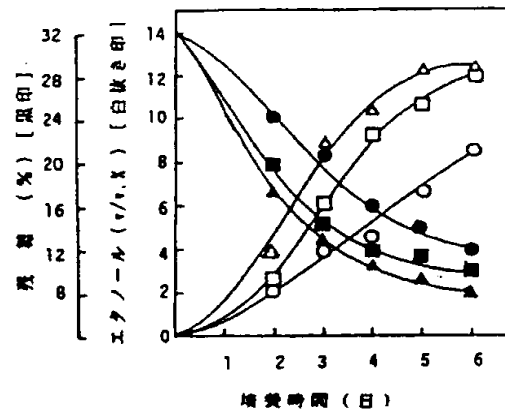
表1. *Saccharomyces cerevisiae* H. S. O. -1株の性質

| 発 酵 | 試験結果 |
|----------------------------------|-------|
| グルコース | + |
| ガラクトース | + |
| スクロース | + |
| マルトース | + |
| ラフィノース | +(完全) |
| ラクトース | - |
| 炭素源資化性 | |
| グルコース | + |
| ガラクトース | + |
| スクロース | + |
| マルトース | + |
| ラフィノース | + |
| ラクトース | - |
| KNO ₃ の資化 | - |
| 生 育 | |
| 50% グルコース-イースト抽出液寒天 | +++ |
| 10%NaCl-5%グルコース-0.5mlBacto-yeast | |
| Nitrogen Base Solution | ++ |
| 40°C | ++ |
| ガスと酸生成 | + |
| アミロイド生成 | + |

表2. *S. cerevisiae* H.S.O.-1 株の各種グルコース濃度、30℃での発酵経過

| 発酵時間 (hr.) | PH | 蔗糖 (%) | | | エタノール (%) | | | CO ₂ 発生量 (ml) | | |
|------------|------|--------|------|------|-----------|-----|------|--------------------------|-----|-----|
| | | 16% | 20% | 25% | 16% | 20% | 25% | 16% | 20% | 25% |
| 1 | 4.35 | 4.47 | 4.46 | 4.46 | 1.0 | 1.0 | 1.5 | 0.8 | 0.7 | 0.8 |
| 2 | 4.34 | 4.51 | 4.53 | 4.53 | 3.2 | 3.2 | 4.5 | 0.9 | 0.7 | 0.8 |
| 3 | 4.48 | 4.51 | 4.57 | 4.57 | 4.0 | 4.0 | 5.9 | 1.0 | 0.8 | 0.8 |
| 4 | 4.51 | 4.55 | 4.63 | 4.63 | 6.3 | 6.3 | 7.4 | 1.0 | 0.9 | 0.9 |
| 5 | 4.46 | 4.58 | 4.68 | 4.68 | 5.2 | 5.2 | 8.0 | 1.2 | 1.0 | 1.0 |
| 6 | 4.62 | 4.61 | 4.73 | 4.73 | 3.9 | 3.9 | 8.1 | 1.2 | 1.0 | 1.0 |
| 7 | 4.48 | 4.64 | 4.77 | 4.77 | 2.9 | 2.9 | 9.9 | 1.3 | 1.1 | 1.1 |
| 8 | 4.67 | 4.66 | 4.78 | 4.78 | 1.8 | 1.8 | 10.3 | 1.3 | 1.2 | 1.1 |
| 9 | 4.67 | 4.66 | 4.78 | 4.78 | 1.8 | 1.8 | 10.4 | 1.3 | 1.2 | 1.1 |
| 10 | 4.67 | 4.66 | 4.81 | 4.81 | 1.8 | 1.8 | 10.4 | 1.3 | 1.2 | 1.1 |

* 16%, 20%, 25% (糖濃度)

図1. ソラセス培地 (35℃) での各種酵母の発酵経過比較図 (初発酵母濃度 2×10^8 / ml)

△/▲: 本酵母 H.S.O.-1 株
 □/■: *Saccharomyces Uveron*
 ○/●: *S. cerevisiae* 醸造協会 7号

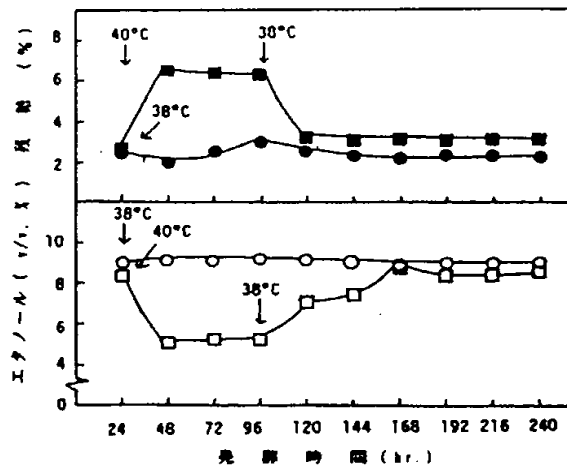


図2. H.S.O.-1 株の繰り返し四分発酵法における発酵温度変化に伴う発酵経過 (初発酵母濃度 $21 \pm 1\%$)
 ■/□: 初発 40℃, 96時間経過後 38℃にて実施。
 ●/○: 初発より一貫 38℃

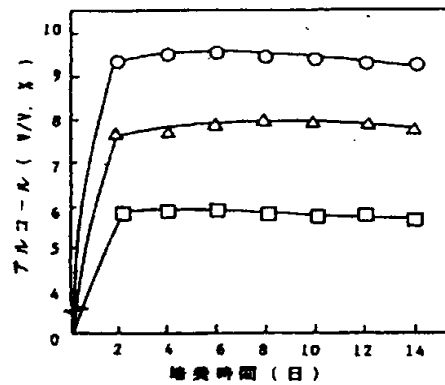


図3. アルギン酸固定化酵母を用い、各種濃度下、38℃での連続発酵経過 (培地組成: 20% Glucose, 1% Peptone, 0.5% KH_2PO_4 , pH 4.5)
 ○: 12, △: 16, □: 20.

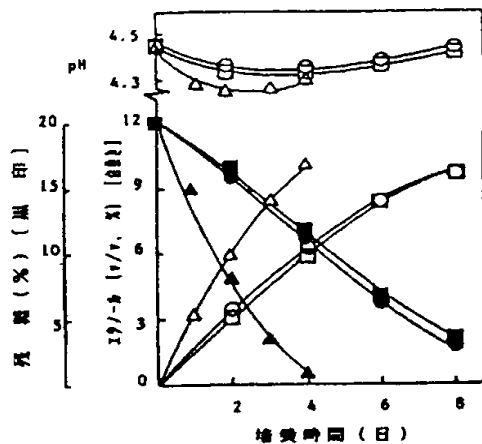


図4. 各種固定化酵母での発酵経過の比較
○/●: 遊離酵母
□/■: アルギン酸固定酵母
△/▲: セラミックス固定化酵母

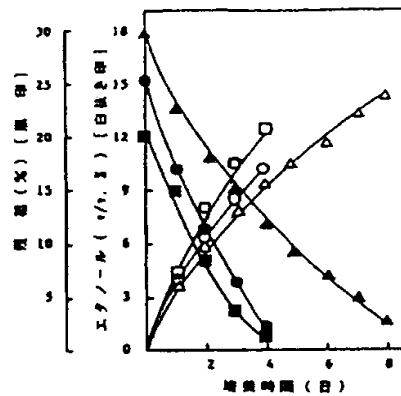


図5. セラミックス固定化酵母を用い、38℃にて
各種濃度での比較
濃度 〇/●: 20%, □/■: 25%, △/▲: 30%

第1頁の続き

⑤Int.Cl.⁸

識別記号

庁内整理番号

//(C 12 P 7/06
C 12 R 1:865)
(C 12 N 1/16
C 12 R 1:865)

手続補正書(方式)

平成元年10月4日

特許庁長官殿

1. 事件の表示

特願昭63-248732

2. 発明の名称

産菌性酵母を用い産菌細胞及び固定化細胞によるエタノールの製造法

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

岐阜市柳林南町12番地

三旺テクノインスチ. チュート株式会社

代表取締役 大 里 章

4. 補正命令の日付

昭和63年12月20日

5. 補正の対象

1. 適正な願書.

1. 適正な図面.

6. 補正の内容 別紙の通り

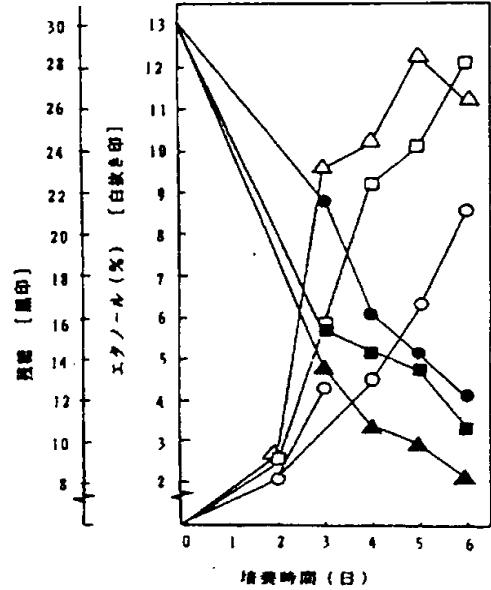


図1. 発酵温度(35℃)における各種酵母の影響

△: 本菌株 II. S. O. -1 株
□: Saccharomyces Uvarum
○: S. cerevisiae 菌造協会 7号

手続補正書

平成3年1月21日提出

平成3年1月20日

特許庁長官殿

1. 事件の表示

特願昭63-248732

2. 発明の名称

産菌性酵母を用い産菌細胞及び固定化細胞によるエタノールの製造法

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

岐阜市柳林南町12番地

三旺テクノインスチ. チュート株式会社

代表取締役 大 里 章

4. 補正命令の日付

平成2年8月28日

5. 補正の対象

昭和64年1月6日付提出の手続補正書の補正の内容の図。

6. 補正の内容

- 昭和64年1月6日付提出の手続補正書の10頁第13行目「4[表. 図の簡単な説明]」を削除する。
- 同頁18行目と19行目の間に「4. 図面の簡単な説明」を加える。

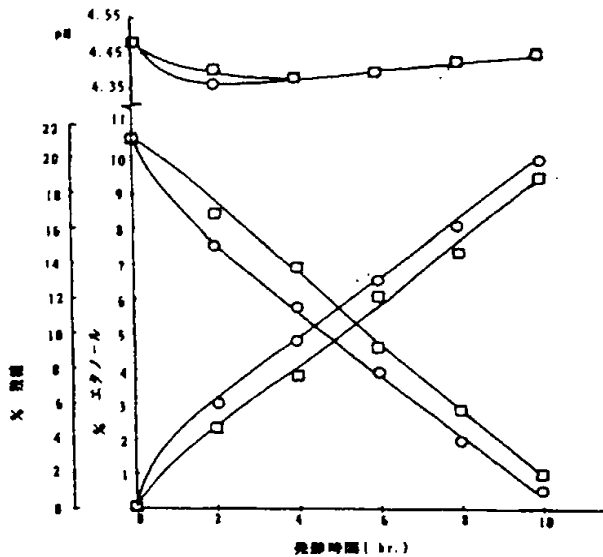
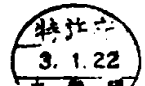


図2. 産菌細胞(□)と固定化細胞(○)との比較
S. cerevisiae R.S.B. -1 株使用、38℃
炭酸ガス発生使用。